

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Pendekatan dan Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimen sesungguhnya (*true eksperimental research*). *True eksperimental research* dapat dilakukan dengan mengontrol semua variabel luar yang bisa mempengaruhi jalannya penelitian. Penelitian menggunakan pendekatan kuantitatif.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini mulai dilakukan pada tanggal 28 November – 14 Desember 2019 di Laboratorium Matria Medika Batu, Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang dan Laboratorium Bioteknologi Universitas Muhammadiyah Malang.

3.3 Populasi, Sampel, dan Teknik Sampling

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah daging ayam broiler yang diambil di rumah potong ayam (RPA) Ayam Segar di Jl. Hasanudin, Junrejo, Malang Jawa Timur.

3.3.2 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 daging ayam broiler bagian sayap yang memiliki berat ± 50 gram/pcs. Menurut Federer (1955) banyaknya sampel eksperimen yang digunakan dalam penelitian didapat dari perhitungan sebagai berikut:

$$(t - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$(10 - 1) (r - 1) \geq 15$$

$$9 (r - 1) \geq 15$$

$$9r - 9 \geq 15$$

$$9r \geq 15 + 9$$

$$9r \geq 24$$

$$r \geq 2,67 \rightarrow 3 \text{ (Ulangan yang digunakan sebanyak 3)}$$

Keterangan:

r = Replikasi (jumlah ulangan)

t = Treatment (jumlah perlakuan)

15 = Faktor derajat kebebasan umum

N = Jumlah sampel umum

$$n = t \times r$$

$$= 10 \times 3$$

= 30 sampel yang digunakan dalam penelitian

3.3.3 Teknik Sampling

Pengambilan sampel menggunakan teknik purposive sampling yaitu bahan yang akan digunakan untuk sampel dipilih secara khusus dengan ciri-ciri tertentu yang sudah ditentukan oleh peneliti (Supranto, 2007). Sampel ayam yang digunakan adalah ayam yang baru disembelih dan diambil bagian sayap dengan berat 50 gram per sampel.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Jenis Variabel

3.4.1.1 Variabel bebas pada penelitian ini adalah berbagai konsentrasi ekstrak daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) varietas putih dan masa simpan ayam broiler (6 jam dan 12 jam).

3.4.1.2 Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah bakteri pada daging ayam broiler.

3.4.1.3 Variabel kontrol pada penelitian ini adalah bagian daging ayam yang diambil adalah sayap, lama perendaman daging pada ekstrak selama 30 menit, dan suhu ruang untuk penyimpanan ayam,

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

Berikut merupakan definisi operasional variabel:

1. Perendaman daging ayam menggunakan 300 ml ekstrak daun jambu biji dan diencerkan menggunakan 900 ml aquades untuk 3 kali pengulangan perlakuan.

2. Konsentrasi larutan ekstrak daun jambu biji di dapat dari pengenceran ekstrak pekat daun jambu biji dan aquades dengan menggunakan rumus pengenceran yaitu :

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

Keterangan :

V_1 : Volume awal

V_2 : Volume akhir

N_1 : Konsentrasi awal

N_2 : Konsentrasi akhir

3. Konsentrasi 10% ekstrak daun jambu biji diperoleh dengan pengenceran 10 ml ekstrak yang ditambah 90 ml aquades. Konsentrasi 20%, 30% dan

40% juga dilakukan pengenceran berturut-turut dengan ekstrak daun jambu biji 20 ml, 30ml, dan 40 ml yang ditambah aquades sampai mencapai volume 100 ml.

4. Penyimpanan ayam broiler dilakukan pada suhu ruang menggunakan mangkok plastik dengan volume 100 ml yang kemudian ditutup plastik *wrap* agar menghindari kontaminasi.
5. Jumlah bakteri dihitung dengan metode *total plate count* (TPC) dan alat *colony counter* dengan cara memberi garis vertikal dan horizontal pada cawan petri. Pada setiap kuadran dihitung jumlah mikroba berdasarkan *standar plate count* yaitu 30-300 koloni. Perhitungan dilakukan setelah penyimpanan 6 jam dan 12 jam.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Tahap Persiapan

3.5.1.1 Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ada pada tabel 3.1 dan 3.2

Tabel 3.1 Alat dan Bahan Ekstrak

Alat	Bahan
1. Timbangan	1. Daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) varietas putih
2. Saringan	2. Etanol 96%
3. Toples	
4. <i>Rotary vacuumevaporator</i>	

Tabel 3.2 Alat dan Bahan Pengenceran serta Uji TPC

Alat	Bahan
1. Pisau	1. Daging ayam broiler
2. Telenan	2. Ekstrak daun jambu biji putih (<i>Psidium guajava</i> L.) varietas putih
3. Coolbox	3. <i>Nutrient agar</i> (NA)
4. Mortal martil	4. Aquades
5. Timbangan	
6. Pipet tetes	
7. Tabung reaksi	
8. Rak tabung reaksi	
9. Gelas ukur	
10. Mangkok plastic	
11. Inkubator	
12. <i>Colony counter</i>	
13. <i>Tissue towels</i>	
14. Cawan Petri	
15. Autoclave	
16. LAF	
17. Bunsen	
18. Hot plate	
19. Spatula	

3.5.2 Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan rancangan acak lengkap (RAL) dengan dua faktor, 10 perlakuan dan 3 kali ulangan. Penelitian ini bersifat homogen sehingga penempatan perlakuan dilakukan secara acak.

Faktor pertama:

- S0 : Daging ayam broiler tanpa direndam ekstrak daun jambu biji varietas putih.
 S1 : Daging ayam broiler direndam selama 30 menit dengan perendaman ekstrak daun jambu biji varietas putih 10%.
 S2 : Daging ayam broiler direndam selama 30 menit dengan perendaman ekstrak daun jambu biji varietas putih 20%.
 S3 : Daging ayam broiler direndam selama 30 menit dengan perendaman ekstrak daun jambu biji varietas putih 30%.
 S4 : Daging ayam broiler direndam selama 30 menit dengan perendaman ekstrak daun jambu biji varietas putih 40%.

Faktor kedua :

- H1 : Penyimpanan 6 jam
 H2 : Penyimpanan 12 jam

Faktor		S				
		S0	S1	S2	S3	S4
H	H1	S0H1	S1H1	S2H1	S3H1	S4H1
	H2	S0H2	S1H2	S2H2	S3H2	S4H2

Gambar 3.1 Rancangan Penelitian

(S0H1) ₁	(S0H2) ₁	(S4H2) ₁	(S2H1) ₂	(S4H1) ₂
(S4H1) ₂	(S1H1) ₁	(S1H2) ₁	(S0H1) ₂	(S3H1) ₂
(S3H1) ₃	(S3H1) ₂	(S2H1) ₁	(S2H2) ₁	(S1H1) ₂
(S1H1) ₃	(S2H1) ₃	(S2H1) ₂	(S3H1) ₁	(S3H2) ₁
(S3H1) ₃	(S0H2) ₃	(S1H1) ₃	(S1H1) ₂	(S4H1) ₁
(S4H1) ₃	(S2H1) ₃	(S4H1) ₃	(S0H1) ₃	(S0H2) ₂

Gambar 3.2 Denah Penelitian

Keterangan : angka 1 dibelakang tanda kurung yaitu ulangan ke 1
 angka 2 dibelakang tanda kurung yaitu ulangan ke 2
 angka 3 dibelakang tanda kurung yaitu ulangan ke 3

3.5.3 Pelaksanaan Penelitian

3.5.3.1 Pembuatan Ekstrak dari Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Varietas Putih

Menurut Anggraeni et al. (2017) pembuatan ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) varietas putih memiliki beberapa tahap sebagai berikut :

1. Memanen daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) varietas putih
2. Mengering anginkan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) varietas putih (tidak terpapar langsung dengan sinar matahari).
3. Menghaluskan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) varietas putih tanpa air.
4. Merendam daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) varietas putih yang telah halus dengan etanol 96% selama 3x24 jam.
5. Setelah direndam etanol 96%, selanjutnya disaring dengan saringan dan kemudian dipekatkan degan *vaccum rotary evaporator* dengan suhu 50°C dan kecepatan 80 rpm.
6. Setelah menjadi ekstrak maka dapat diencerkan dengan aquades untuk mendapatkan ekstrak daun jambu biji variasi putih dengan konsentrasi 0%, 10%, 20%, 30% dan 40%.

3.5.3.2 Pembuatan Media *Nutrient Agar* (NA)

Menurut Juariah dan Sari (2018) pembuatan media nutrient agar dilakukan dengan tahap sebagai berikut:

1. Menimbang *nutrient agar* (NA)
2. Menambahkan aquades dan mengaduk sampai merata.
3. Memanaskan larutan NA sampai tercampur homogen (sampai warna kuning jernih) namun tidak sampai terbentuk buih yang berlebihan sehingga meluap.
4. Melakukan sterilisasi cawan petri yang berisi larutan NA pada autoklaf suhu 121°C selama 1 jam.
5. Menuangkan media ke dalam cawan petri dan mensterilkan cawan kembali.

3.5.3.3 Proses Perendaman Daging Ayam Broiler dengan Ekstrak Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Varietas Putih

Berikut merupakan proses perendaman ayam broiler yang mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Anggraeni et al. (2017).

1. Menyiapkan sampel ayam broiler bagian sayap.
2. Merendam sampel ayam broiler dengan berbagai konsentrasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) varietas putih yang telah diencerkan dengan aquades selama 30 menit.
3. Meniriskan ayam broiler yang telah direndam berbagai konsentrasi ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) varietas putih.
4. Melakukan uji Total Plate Count (TPC) setelah 6 jam dan 12 jam dari waktu perendaman.

3.5.3.4 Parameter Pengamatan dengan Total Plate Count (TPC)

Perhitungan Total Plate Count (TPC) dilakukan dengan tahap sebagai berikut :

1. Sampel ayam broiler dipotong sebanyak 1 gram.
2. Menghomogenkan sampel ayam broiler dengan laquades steril sebanyak 9 ml dengan stomacher selama 1-2 menit hingga menjadi larutan dengan pengenceran 10^{-1} .
3. Sampel yang telah dihomogenkan diambil sebanyak 1 ml dan dihomogenkan kembali dengan aquades steril sebanyak 9 ml, yang akhirnya menjadi larutan dengan pengenceran 10^{-2} . Hal tersebut dilakukan dengan cara yang sama untuk mendapatkan larutan dengan pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} dan 10^{-6} .
4. Mengambil larutan yang telah dihomogenkan masing-masing 1 ml dan diletakkan pada cawan petri secara duplo.
5. Menambahkan masing-masing larutan dengan *Nutrient Agar* (NA) lalu memutar cawan ke segala arah yang dilakukan pada enkast.
6. Melakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.
7. Melakukan penghitungan jumlah bakteri dengan *total plate count* (TPC) dengan menggunakan *colony counter*.

Rumus penghitungan TPC

$$\text{Koloni per ml atau per gram} = \text{Jumlah koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{Faktor pengenceran}}$$

Proses pengujian Total Plate Count (TPC) mengacu pada SNI 2332.3:2015 mengenai angka lempeng total (BSN, 2015).

3.6 Metode Pengumpulan Data

3.6.1 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengambilan data dengan *post test only* atau data yang diambil adalah setelah adanya perlakuan yaitu pemberian berbagai ekstrak daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) varietas putih dan masa simpan pada ayam broiler (*Gallus domesticus*). Data diambil dari uji Total Plate Count (TPC) untuk mengetahui jumlah bakteri. Data yang telah diambil kemudian dicatat dan dimasukkan dalam tabel pengamatan total bakteri.

Tabel 3.3 Sajian Hasil Pengamatan Total Bakteri Daging Ayam Broiler

Perlakuan		Jumlah koloni bakteri (cfu/ ml)			Total	Rata-rata
Masa Simpan (jam)	Konsentrasi (%)	Ulangan				
		I	II	III		

3.7 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang dilakukan penelitian ini adalah dengan menggunakan uji *two way ANOVA* untuk menguji perbandingan rata-rata beberapa kelompok. Sebelum melakukan uji *two way ANOVA* maka diperlukan uji normalitas untuk mengetahui kenormalan suatu data. Uji normalitas bisa menggunakan signifikansi pada perhitungan *Shapiro-Wilk*. Setelah data dikatakan normal, maka dilakukan uji homogenitas yang menggunakan metode *levene test*, apabila nilai signifikansi $> 0,05$ maka dikatakan homogen, jika $< 0,05$ maka data dikatakan tidak homogen. Setelah data dikatakan homogen maka dilanjutkan dengan uji *two way ANOVA*. Hasil data uji *two way ANOVA* yang menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan.